

# 头孢唑酮与 Triton X-100 缔合体系的相互作用\*

朱 君 钱俊红 郭 荣

(扬州大学化学化工学院, 扬州 225002)

**摘要** 抗生素头孢唑酮的加入使得非离子表面活性剂 Triton X-100 的表面活性降低.  $^1\text{H-NMR}$  的结果表明, 头孢唑酮增溶于胶束极性基团附近. 头孢唑酮与 Triton X-100 胶束的结合常数随 Triton X-100 含量的增加而下降, 但头孢唑酮在 Triton X-100 胶束相和水连续相之间的分配系数不随 Triton X-100 含量变化而变化.

**关键词:** 头孢唑酮, Triton X-100, 表面活性, 聚集数, 结合常数, 分配系数

**中图分类号:** O648

表面活性剂从 18 世纪初开始应用于药学领域, 至今已有二百多年的历史, 其在药学领域中主要用作增溶剂、乳化剂、分散剂、渗透剂、消毒防腐剂等<sup>[1-2]</sup>. 非离子表面活性剂具有某些优越于离子型表面活性剂的性能, 如稳定性高、生物相容性好、毒性和溶血作用小、不易受电解质和溶液的影响、能与大多数药物配伍等<sup>[3]</sup>. 因此, 研究药物与非离子表面活性剂的相互作用具有重要的理论价值和实际意义.

头孢唑酮属于  $\beta$ -内酰胺类化合物, 是一种重要的抗生素, 具有免疫调节作用. 其主要特征为: 对青霉素结合蛋白有高度亲和力; 可通过革兰氏阴性菌外膜孔道迅速扩散到细菌周围并维持较高浓度; 对染色体介导的和部分质粒介导的  $\beta$ -内酰胺酶稳定<sup>[4-5]</sup>. 由于表面活性剂分子有序组合体在结构上与细胞膜的结构具有相似性, 因此, 本文以非离子表面活性剂 Triton X-100 (TX-100) 缔合体系模拟细胞, 研究了头孢唑酮与 TX-100 缔合体系的相互作用. 结果表明, 头孢唑酮的加入使得 TX-100 的表面活性降低、胶束聚集数下降; 随着 TX-100 含量的增加, 头孢唑酮与 TX-100 胶束的结合常数降低.  $^1\text{H-NMR}$  的结果表明, 头孢唑酮在胶束中定位于 TX-100 极性基团附近. 以上结果为头孢唑酮的应用提供了重要信息.

## 1 实验部分

### 1.1 实验试剂

TX-100 (Aldrich, > 99%), 头孢唑酮 (先锋 9 号, 重庆市兽药厂), 苾 (Sigma, > 99%), 水合氯化十六烷基吡啶 (CPC, Fluka 公司, > 99%), 二次蒸馏水.

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 表面张力的测定

以吊环法测定不同浓度 TX-100 水溶液的表面张力 (JYM-200A 自动界面张力仪, 承德市实验机总厂). 25  $^{\circ}\text{C}$  时二次蒸馏水的表面张力为  $71.4 \text{ mN} \cdot \text{m}^{-1}$ , 测量误差  $\pm 0.1 \text{ mN} \cdot \text{m}^{-1}$ .

#### 1.2.2 浊点的测定

配制不同头孢唑酮浓度的 1% TX-100 水溶液. 将其置于水浴中缓慢升温, 样品由清变浊时的温度即为浊点. 在浊点附近时, 升温速率为  $2 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{h}^{-1}$ .

#### 1.2.3 头孢唑酮在 TX-100 胶束体系中增溶位置的测定

配制不同头孢唑酮浓度的  $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  TX-100 的重水溶液, 测定每个样品的  $^1\text{H-NMR}$  谱 (Bruker ARX-600, 600 MHz). 通过 TX-100 分子中不同环境质子的化学位移变化, 确定头孢唑酮在 TX-100 胶束中增溶的位置<sup>[6]</sup>.

#### 1.2.4 胶束聚集数的测定

以苾为荧光探针, CPC 为猝灭剂, 激发波长为 338 nm, 发射波长为 373 nm, 固定 TX-100 的浓度在临界胶束浓度 (cmc) 以上, 测定不同头孢唑酮浓度下 TX-100 胶束体系的荧光强度, 由式 (1) ~ (3) 计

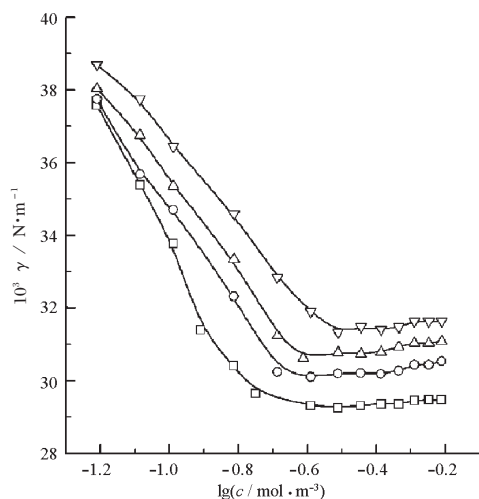


图1 表面张力随 Triton X-100 浓度的变化

Fig. 1 The curves of surface tension vs Triton X-100 concentration

cephanone concentration ( $c/\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ):  $\square$  0.00; $\circ$  0.01;  $\triangle$  0.02;  $\nabla$  0.04

算胶束的聚集数  $N^{[7]}$ . 苾的浓度为  $4 \times 10^{-7} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

$$I_i = I_0 \exp(-[Q]/[M]) \quad (1)$$

$$[M] = ([S_t] - [S_f])/N \quad (2)$$

$$\ln([I]_i/[I]_0) = N[Q]/(\text{cmc} - [S_t]) \quad (3)$$

式(1)~(3)中,  $I_i$  和  $I_0$  分别为有猝灭剂和无猝灭剂时苾的荧光强度,  $[M]$  为胶束浓度,  $[Q]$  为猝灭剂浓度,  $[S_t]$ 、 $[S_f]$  分别为表面活性剂总浓度和表面活性剂单体分子的浓度(近似为 cmc).

### 1.2.5 结合常数的测定

以苾为荧光探针, 测定不同头孢唑酮浓度时苾的荧光强度. 根据苾的荧光强度随头孢唑酮浓度的变化, 可得到头孢唑酮与 TX-100 胶束的结合常数以及头孢唑酮在 TX-100 胶束相和水连续相的分配系数<sup>[8]</sup> (RF-5301PC 型荧光光谱仪、日本 Shimadzu 公司). 苾的浓度为  $4 \times 10^{-7} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

除浊点实验外, 其他实验温度均为  $(25.0 \pm 0.1)^\circ\text{C}$ .

## 2 结果与讨论

表1 头孢唑酮对 Triton X-100 临界胶束浓度, 临界表面张力, 极限吸附量和极限分子面积的影响

Table 1 The effects of cephanone on the cmc,  $\gamma_{\text{cmc}}$ , limiting adsorption amount and the limiting area of Triton X-100 molecule

Cephanone $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$10^4$ cmc $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$10^3$ $\gamma_{\text{cmc}}$ $\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$	Limiting adsorption amount $(\text{mol}\cdot\text{m}^{-2})$	Limiting area of molecule $(\text{nm}^2)$
0.00	1.86	29.14	3.30	0.50
0.01	2.23	30.04	2.44	0.68
0.02	3.01	30.56	2.26	0.74
0.04	3.80	31.36	1.98	0.84

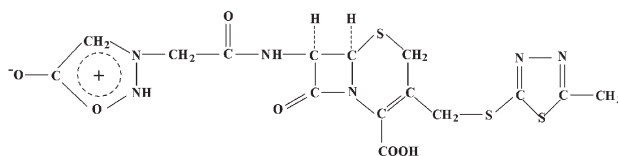


图2 头孢唑酮的分子结构式示意图

Fig. 2 Scheme of molecular structure of cephanone

### 2.1 头孢唑酮对 TX-100 表面活性的影响

头孢唑酮的抗菌活性与其对细菌细胞膜的作用有关<sup>[9]</sup>. 由于表面活性剂缔合体系与细胞膜具有某些相似的性质, 因此可以通过头孢唑酮对 TX-100 表面活性的影响来研究头孢唑酮与细胞膜的作用. 图1表示了 TX-100 溶液表面张力随头孢唑酮浓度的变化曲线.

$$\Gamma = -\left(\frac{1}{2.303RT}\right)\left(\frac{d\gamma}{d\lg c}\right) \quad (4)$$

$$A = 1/\Gamma N_A \quad (5)$$

式中  $\Gamma$  为 Gibbs 吸附量,  $A$  为平均每个 TX-100 分子所占表面积,  $N_A$  为阿伏加德罗常数. 由图1的结果和式(4)、(5)求得 TX-100 溶液的极限吸附量和极限分子面积, 结果见表1.

由图1和表1可知, 随着头孢唑酮浓度的增加, TX-100 溶液的 cmc 增加, 临界表面张力  $\gamma_{\text{cmc}}$  增大, 极限吸附量下降, 极限分子面积增大. 上述结果表明, 头孢唑酮的存在既不利于 TX-100 分子吸附于溶液表面, 也不利于其在表面的紧密排列, 从而导致 TX-100 降低表面张力的能力和效率均下降, TX-100 的表面活性降低. 产生此现象的原因为: (1) 头孢唑酮分子结构中的氨基、羧基等都是含有活泼氢的基团(图2), 可以与 TX-100 分子中的亲水基团通过氢键作用结合, 从而使得 TX-100 的亲水性增强、表面活性降低; (2) 头孢唑酮分子极性较强, 通过氢键与 TX-100 作用使得 TX-100 分子的表现面积增大, 从而导致其在溶液表面的排列疏松、表面活性降低.

头孢唑酮对 TX-100 亲水性的影响, 可通过头

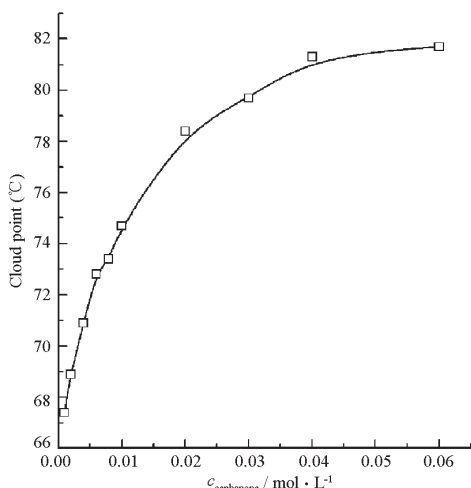


图3 头孢唑酮浓度对1% Triton X-100 浊点的影响  
Fig. 3 The cloud points of Triton X-100(1%aq) as a function of cephanone concentration

孢唑酮对 TX-100 浊点的影响得到证实. 由图 3 可知, 头孢唑酮的存在使得 TX-100 的浊点上升, 表明 TX-100 的亲水性随头孢唑酮浓度的增加而增加.

## 2.2 头孢唑酮在 TX-100 胶束中的定位

图 4 为头孢唑酮对 TX-100 分子中不同位置质子化学位移  $\Delta\delta$  的影响. 由于头孢唑酮分子中芳杂环的屏蔽和去屏蔽作用, 使得 TX-100 分子中不同位置质子化学位移的变化值不同. 因此, 可以通过 TX-100 分子中不同位置质子化学位移值的变化, 确定头孢唑酮在 TX-100 胶束中增溶的位置<sup>[10]</sup>.

不同头孢唑酮浓度时 TX-100 分子上各质子的化学位移变化值  $\Delta\delta$  如图 5 所示. 由图可知, 头孢

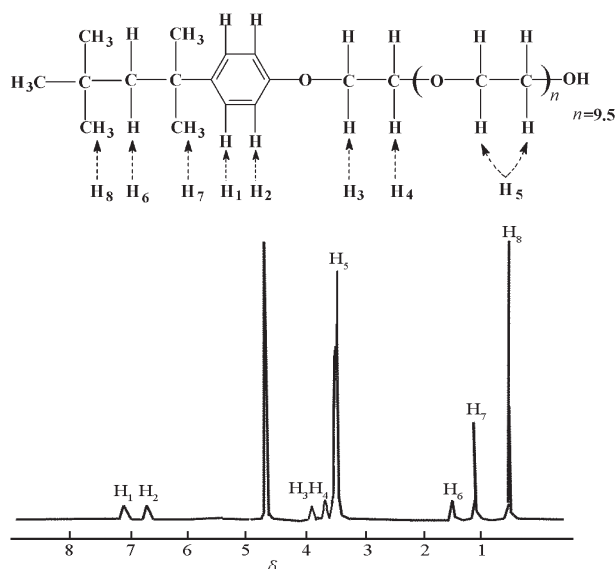


图4 Triton X-100 的分子结构和核磁共振谱  
Fig. 4 The molecular structure and <sup>1</sup>H-NMR of Triton X-100

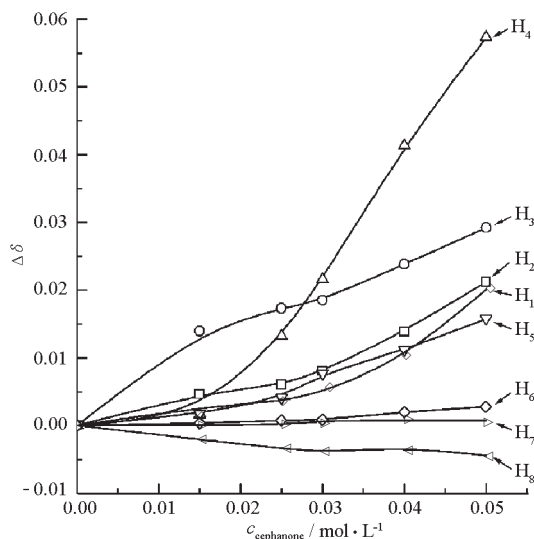


图5 头孢唑酮浓度对 Triton X-100 不同位置质子化学位移  $\Delta\delta$  的影响

Fig. 5 The effects of cephanone concentration on the  $\Delta\delta$  of protons in different locations of the Triton X-100 molecule

孢唑酮的加入使得 TX-100 分子中  $H_1$ 、 $H_2$ 、 $H_3$ 、 $H_4$ 、 $H_5$  的  $\Delta\delta$  均增加, 其变化趋势为  $H_4 > H_3 > H_2 > H_1 > H_5$ ;  $H_6$ 、 $H_7$  的化学位移几乎不变; 而  $H_8$  的化学位移略有降低. 上述结果表明头孢唑酮分子上的芳杂环定位于 TX-100 分子的苯环和氧乙烯的连接处.

## 2.3 头孢唑酮对 TX-100 胶束聚集数的影响

图 6 为头孢唑酮对 TX-100 胶束聚集数的影响. 由图可见,  $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  TX-100 的聚集数为 64, 此值与文献报道相同<sup>[11]</sup>; 随着头孢唑酮浓度的

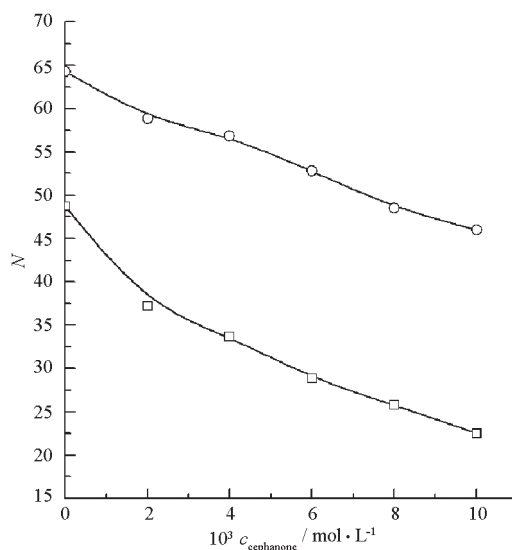


图6 Triton X-100 的聚集数随头孢唑酮浓度的变化  
Fig. 6 The aggregation number ( $N$ ) of Triton X-100 micelle as a function of cephanone concentration  
Triton X-100 concentration ( $10^3 c / \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ):  $\square$  1.0;  $\circ$  10.0

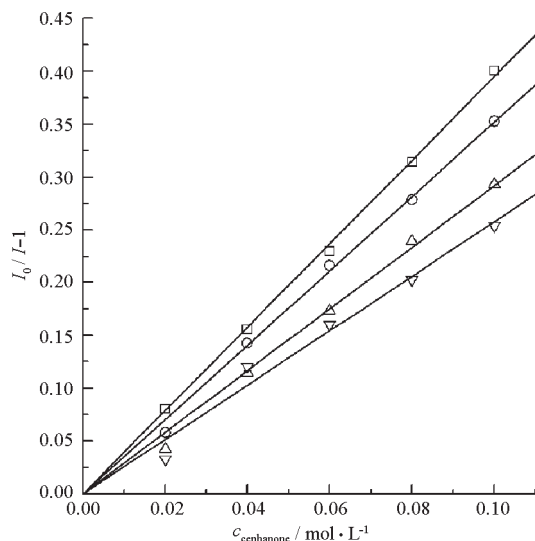


图 7 不同 Triton X-100 浓度时荧光猝灭效率与头孢唑酮浓度的关系

Fig. 7 The change of fluorescence quenching efficiency with cephanone concentration

Triton X-100 concentration ( $10^4$  c/mol·L<sup>-1</sup>): □ 5.0; ○ 6.0; △ 7.0; ▽ 8.0,  $\lambda_{em} = 373$  nm.

增加, TX-100 胶束的聚集数降低. 球形胶束的聚集数与表面活性剂分子相关参数的关系可表示为<sup>[12]</sup>:

$$Na_0 = 4\pi(l_c + \Delta)^2 \quad (6)$$

式中,  $N$  为胶束的聚集数,  $l_c$  为表面活性剂表观碳链长度,  $a_0$  为极性基团的表观截面积,  $\Delta$  为由表面活性剂亲水基团所产生的球半径的外加值. 由式(6)可知, 胶束的聚集数随着  $l_c$  的增加而增加, 随着  $a_0$  的增加而减小. 在 TX-100 胶束体系中, 由于头孢唑酮与 TX-100 亲水基团的作用, 使得 TX-100 分子的  $a_0$  增加、胶束聚集数减小.

#### 2.4 头孢唑酮与 TX-100 胶束的相互作用

头孢唑酮在胶束相与水连续相之间的分配系数  $K_x$  可表示为<sup>[8]</sup>

$$K_x = 55.5 K_s / (1 + K_s c_c^w) \quad (7)$$

$$c_c^T = n c_s^M + (n / K_s) \quad (8)$$

式中  $K_s$  为结合常数,  $c_c^w$  为头孢唑酮在水相中的摩尔浓度,  $c_s^M$  为表面活性剂胶束的浓度,  $c_c^T$  为头孢唑酮的总浓度,  $n$  为头孢唑酮在胶束相中的平均占有数. 由此可得头孢唑酮从水连续相转移到胶束相的标准转移自由能变化为:

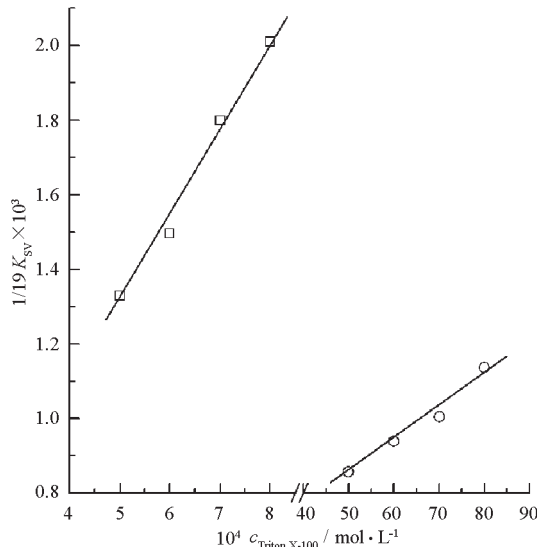


图 8  $1/(19 K_{SV})$  与 Triton X-100 浓度的关系

Fig. 8 The relation between  $1/(19 K_{SV})$  and Triton X-100 concentration

Triton X-100 concentration ( $10^4$  c/mol·L<sup>-1</sup>): □ 5.0 ~ 8.0; ○ 50 ~ 80

$$\Delta G_c^0 = \Delta G_M^0 - \Delta G_W^0 = -RT \ln K_x \quad (9)$$

头孢唑酮对苾猝灭作用的实验结果符合 Stern-Volmer 方程

$$I_0/I = 1 + K_{SV} c_c^T \quad (10)$$

式中  $I_0$  和  $I$  分别为无头孢唑酮和有头孢唑酮存在时苾在 373 nm 处的荧光发射光谱强度,  $K_{SV}$  为 Stern-Volmer 常数. 以  $(I_0/I - 1)$  对  $c_c^T$  作图, 直线斜率为  $K_{SV}$  (图 7). 当头孢唑酮对苾的荧光猝灭效率为 5% 时,  $c_c^T$  的值等于  $1/(19 K_{SV})$ . 以  $1/(19 K_{SV})$  代替  $c_c^T$  对  $c_s^M$  作图 (图 8), 由所得直线的斜率  $n$  与截距可求得结合常数  $K_s$  (表 2). 将 25 °C 时头孢唑酮在水中的溶解度  $4.94 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  代入 (7) 式, 可得到头孢唑酮在胶束相与水连续相之间的分配系数  $K_x$  (表 2). 由表 2 可知, 随着 TX-100 浓度的增加, 头孢唑酮在胶束相与水连续相之间的分配系数几乎不变, 但头孢唑酮与 TX-100 胶束的结合常数降低. 显然在确定头孢唑酮浓度下, 随着 TX-100 浓度的增加, TX-100 胶束数目增多, 定位于单个胶束的头孢唑酮分子数减少, 从而导致头孢唑酮与 TX-100 胶束的结合常数降低. 由式 (9) 可得头孢唑酮从水

表 2 不同 Triton X-100 浓度下的结合常数和分配系数

Table 2 The binding constant ( $K_s$ ) and distribution coefficient ( $K_x$ ) in various Triton X-100 concentrations			
$10^4$ $c_{\text{Triton X-100}} / \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$K_s$	$K_x$	$\Delta G^0 / \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
5.0 ~ 8.0	1.784	11.23	-5.99
50.0 ~ 80.0	0.0224	11.22	-5.99

连续相转到胶束相的标准转移自由能  $\Delta G^0 = -5.99$   $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ . 此结果表明, 头孢唑酮在 TX-100 胶束中增溶过程是自发过程.

### 3 结论

头孢唑酮的加入使得 TX-100 的表面活性降低, 胶束聚集数减少. 头孢唑酮在 TX-100 胶束中的增溶为自发过程. 头孢唑酮在 TX-100 胶束中定位于 TX-100 分子的苯环与极性基团连接处. 随着 TX-100 含量的增加, 头孢唑酮与 TX-100 胶束的结合常数下降.

### References

- Schick, M. J. Nonionic surfactant. New York: Marcel Dekker, 1967: 1
- Parthasarathi, G.; Upupa, N.; Pillai, G. K. *J. Pharm. Sci.*, **1994**, **56**: 90
- Zhao, G. X. Principles of surfactant action. Beijing: Chinese Light Industry Press, 2003: 38 [赵国玺. 表面活性剂作用原理. 北京: 中国轻工业出版社, 2003: 38]
- Peng, S. X. Medicinal chemistry. Beijing: Chemical Industry Press, 2000: 325-333 [彭司勋. 药物化学. 北京: 化学工业出版社, 2000: 325-333]
- Fang, J. R. Antibiotic. Beijing: Science Press, 1988: 242-254 [方金瑞. 抗生素. 北京: 科学出版社, 1988: 242-254]
- Varsha, S.; Samiran, M. *J. Colloid and Interface Sci.*, **2000**, **225**: 32
- Raond, Z. Surfactant solution new methods of investigation. New York: Marcel Vekker Inc, 1987: 114
- Encinas, M. V.; Lissi, A. *J. Chem. Phys. Lett.*, **1982**, **91** (1): 55
- Zhang, Z. P. *Chinese Journal of Antibiotics*. **2002**, **27**(2): 67 [张致平. 中国抗生素杂志 (*Zhongguo Kangshengsu Zazhi*), **2002**, **27**(2): 67]
- Franca, P.; Ashoka, R.; Gerorge, N. *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, **95**(19): 6164
- Marian, W.; Jacek, M. *J. Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **2002**, **147**: 49
- Qian, S. H.; Qian, J. H.; Guo, R. *Acta Phys.-Chim. Sin.*, **2003**, **19**(12): 1127 [钱少华, 钱俊红, 郭荣. 物理化学学报 (*Wuli Huaxue Xuebao*), **2003**, **19**(12): 1127]

## Interaction of Cephaneone with Triton X-100 Aggregates\*

ZHU, Jun      QIAN, Jun-Hong      GUO, Rong  
(School of Chemistry and Chemical Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225002)

**Abstract** The effects of cephanone on the surface activity and aggregation behavior of Triton X-100 molecule were studied by the methods of surface tension and fluorescence, respectively. The binding constant between cephanone and Triton X-100 micelles was determined by the method of steady state fluorescence. The location of cephanone in Triton X-100 micelles was investigated through nuclear magnetic spectroscopy(NMR). The results showed that the surface activity of Triton X-100 decreased with the increase of cephanone concentration. With the increase of Triton X-100 concentration, the binding constant between cephanone and Triton X-100 micelles decreased, but the distribution coefficient of cephanone between Triton X-100 micelles and water continuous phase kept to be invariable. The results of  $^1\text{H-NMR}$  showed that cephanone was located around the polar group of Triton X-100 micelle.

**Keywords:** Cephaneone, Triton X-100, Surface activity, Aggregation number, Binding constant, Distribution coefficient